

牦牛脂肪型脂肪酸结合蛋白基因 (*A-FABP*) 多态性分析

曹 健¹, 罗玉柱¹, 胡 江¹, 成述儒¹, 杨 果², 刘 秀¹

(1. 甘肃农业大学 动物科学技术学院, 甘肃省草食动物生物技术重点实验室(甘肃农业大学), 甘肃 兰州 730070;

2. Gene-Marker Laboratory, Faculty of Agriculture and Life Sciences, Lincoln University, Canterbury 7647, New Zealand)

摘要: 脂肪型脂肪酸结合蛋白(*A-FABP*) 属脂肪酸结合蛋白家族(*FABPs*) 成员, 参与调节哺乳动物细胞内脂肪浓度, 进而影响肌肉内脂肪含量(IMF), 因此 *A-FABP* 可作为影响 IMF 的候选基因。本研究采用 PCR-SSCP 技术检测甘南牦牛、青海牦牛、天祝白牦牛(*Bos grunniens*) *A-FABP* 基因部分第3内含子、第4外显子及部分3'-UTR区单核苷酸多态性(SNPs), 分析检测区域分子遗传特征。结果表明, 3类群牦牛引物扩增区域发现5种等位基因A-E; 同普通牛 *A-FABP* 基因序列比对发现6处SNPs, 其中第4外显子区存在 c. 4222A > G 的同义突变; 3'-UTR区 c. * 94T > A 只存在于牦牛群体, 是其区别于普通牛的遗传特征之一。各等位基因在群体间分布差异较大, 其中天祝白牦牛只发现3种等位基因, 而青海牦牛发现4种等位基因, 这可能与牦牛类群的地域分布及选育程度有关。3类群牦牛 *A-FABP* 基因检测位点表现为中度多态(PIC为0.29~0.36), 有效等位基因数较高, 可作为潜在的牦牛肉质性状分子标记位点。

关键词: 牦牛; 脂肪型脂肪酸结合蛋白基因; PCR-SSCP; SNPs

中图分类号: S823.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)04-0042-06

Polymorphism of Adipocyte Fatty Acid-binding Protein Gene(*A-FABP*) in Yak(*Bos grunniens*)

CAO Jian¹, LUO Yu-zhu¹, HU Jiang¹, CHENG Shu-ru¹, YANG Guo², LIU Xiu¹

(1. Faculty of Animal Sci-tech, Gansu Key Laboratory of Herbivorous Animal Biotechnology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Gene-Marker Laboratory, Faculty of Agriculture and Life Sciences, Lincoln University, Canterbury 7647, New Zealand)

Abstract: Adipocyte fatty acid-binding protein(*A-FABP*) as a member of the fatty acid binding protein(*FABPs*) family, play a pivotal role in regulating intracellular fat concentration and then affect intramuscular fat(IMF) in mammalian. So *A-FABP* was suggested as a candidate gene of IMF in some species of livestock and poultry. In this study, single nucleotide polymorphisms(SNPs) was investigated at *A-FABP* intron 3, exon4 and 3'-UTR in Gannan yak, Qinghai yak and Tianzhu white yak(*Bos grunniens*) by polymerase chain reaction-single strand conformational polymorphism(PCR-SSCP) so as to analyse their molecular genetic characteristics. Five novel SSCP patterns representing five different alleles A-E were identified in three yak populations. With alignment of the bovine(*Bos taurus*) and yak *A-FABP* allelic sequences, six SNPs including a synonymous mutation(c. 4222A > G) at exon 4 were checked in yak. SNP c. * 94T > A in 3'-UTR of *A-FABP* which was only detected in yak population represented one of genetic characteristics of yak that differ from the bovine. Alleles distributed disproportionably among three yak populations, such as only alleles A-C were observed in Tianzhu white yak and alleles A-D in Qinghai yak. This may be related to geographical distribution and breeding methods of different yak populations. The mutations in amplified region of yak *A-FABP* would become a potential locus for genetic markers of meat quality traits of yak as it showed moderate polymorphism with PIC in the range of 0.29-0.36 and higher effective number of alleles(*N_e*).

收稿日期: 2012-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31160451); 甘肃省农业生物技术研究与应用开发项目(No. GNSW-2010-02); 国家科技支撑计划课题(No. 2009BAC53B06)

作者简介: 曹 健(1984-), 男, 甘肃武威人, 在读硕士, 主要从事动物遗传育种研究。

通讯作者: 胡 江(1975-), 男, 甘肃秦安人, 副教授, 博士, 主要从事草食动物遗传育种及牛生产技术研究。

Key words: Yak; Adipocyte fatty acid-binding protein gene(*A-FABP*) ; PCR-SSCP; SNPs

脂肪酸结合蛋白家族(Fatty acid binding proteins, FABPs)属于脂结合蛋白超家族,能特异性地结合脂肪酸,对细胞内脂肪代谢有重要作用。目前已发现9种不同类型的FABPs,其中,脂肪型脂肪酸结合蛋白(Adipocyte fatty acid-binding protein, *A-FABP*)在脂肪细胞中表达,哺乳动物*A-FABP*是甘油三酯贮存库,在甘油三酯的形成和溶解过程中储存或释放大量的脂肪酸,参与调节细胞内脂肪浓度,*A-FABP*基因变异对肌内脂肪含量(Intramuscular Fat, IMF)有显著影响^[1,3-5]。IMF是形成肌肉风味的主要前体物质,与肉质及口感呈正相关,特别是肉的嫩度和多汁性。Gerbens等^[2]检测了纯种杜洛克猪*A-FABP*基因,发现*A-FABP*各基因型之间IMF含量有显著差异;Hoashi等^[6]发现日本黑牛*A-FABP*基因的一个多态位点对肌内脂肪酸的组成有显著影响;李文娟等^[7]发现,北京油鸡*A-FABP*基因mRNA表达水平与胴体质量显著相关,而不影响IMF。

普通牛*A-FABP*基因定位在BTA14,有4个外显子和3个内含子,4个外显子分别编码24、58、34、16个氨基酸^[8]。郝荣超等^[9]对草原红牛及其杂种牛群体*A-FABP*基因第4外显子检测发现SNPs;刘艳妍等^[10]、王卓^[4]分别在秦川牛*A-FABP*基因5'-非编码区、第1内含子和第4外显子发现SNPs,且与牛肉大理石花纹及系水力等肉质性状相关。

牦牛(*Bos grunniens*)是我国青藏高原及其周边高寒牧区重要的生产和生活资源。牦牛肉质性状是重要经济性状,其嫩度、大理石花纹等均不同于普通牛。对牦牛肉质性状相关基因研究将有助于逐步阐明其分子遗传机理,提升高原特色牦牛肉产品质量。*A-FABP*与普通牛部分肉质性状相关,而牦牛*A-FABP*基因分子遗传研究未见报道。鉴于*A-FABP*在机体脂类代谢及对畜禽肉质性状的影响,本研究应用PCR-SSCP技术检测甘南牦牛、天祝白牦牛、青海牦牛*A-FABP*基因部分第3内含子、第4外显子及部分3'-UTR区的SNPs,分析群体遗传多态性,为牦牛肉质性状候选基因研究积累素材。

1 材料和方法

1.1 试验样品来源

选择甘南牦牛(288头)、天祝白牦牛(89头)和青海牦牛(55头),颈静脉采血10 mL ACD抗凝,置于冰盒内迅速带回实验室在-70℃冻存。

1.2 基因组DNA提取

用常规的苯酚-氯仿抽提法从冻存血样中提取基因组DNA。

1.3 引物设计和PCR扩增

根据GenBank公布的普通牛*A-FABP*基因序列(NM_174314),用Primer 5.0软件设计引物(F: 5'-TCTCAATGTGAACCGTAT-3'; R: 5'-TTCTTGCT-TATTAGTGA-3')扩增牦牛*A-FABP*基因第4外显子和部分第3内含子以及部分3'-UTR区,预期扩增产物大小为404 bp。引物由大连宝生物有限公司合成。

PCR反应总体积20 μL,各成分用量(终浓度):10×PCR缓冲液2 μL(Mg^{2+} 1.5 μmol/L),DNA模板(约50 ng/μL) 0.8 μL,上下游引物(0.25 μmol/L)各0.6 μL,dNTP(150 μmol/L) 0.6 μL,TaqDNA聚合酶(0.5 U) 0.2 μL,超纯水15.2 μL。

PCR扩增程序:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,52℃退火30 s,72℃延伸50 s,35个循环;72℃延伸10 min;4℃保存。应用ABI Veriti梯度PCR仪(Gene Company Limited,USA)进行PCR扩增。扩增产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 PCR产物的SSCP检测

取2 μL扩增产物,加入8 μL变性上样缓冲液(98%去离子甲酰胺,0.025%溴酚蓝,0.025%二甲苯青,10 mmol/L EDTA),98℃变性10 min,立即放入冰浴退火。用10%的非变性聚丙烯凝胶(Acr:Ser=39:1)在220 V电压下,电泳槽内水循环温度4℃电泳21 h。非变性聚丙烯凝胶用银染法^[25]染色后判定基因型。

1.5 等位基因序列测定

选择扩增效果好的AA、BB、CC、AB和AC的PCR产物纯化后送北京六合华大基因公司测序(双向),AD和AE个体纯化克隆后送北京六合华大基因公司测序。

1.6 序列分析与数据统计

应用DNAMAN软件进行等位基因核苷酸序列比对分析,采用Popgen软件计算等位基因频率、基因型频率、纯合度(H_o)、杂合度(H_e)和有效等位基因数(N_e),采用SPSS16.0软件进行卡方(χ^2)适合性检验,采用PIC软件计算多态信息含量(PIC)。

统计方法如下:

基因型频率:基因型频率=某一基因型个体数/测定群体总个体数。

基因频率:

$$P = \frac{2n_{AA} + n_{Aa}}{2(n_{AA} + n_{Aa} + n_{aa})}; q = \frac{2n_{AA} + n_{AB}}{n_{AA} + n_{AB} + n_{BB}}$$

其中 P 是某一特定基因位点上等位基因 A 的基因频率 q 是某一特定基因位点上等位基因 B 的基因频率。 n_{AA} 、 n_{AB} 、 n_{BB} 分别是群体中基因型 AA、AB 和 BB 的个体数。

纯合度和杂合度:

$$\text{纯合度: } H_o = \sum_{i=1}^n P_i^2$$

$$\text{杂合度: } H_e = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

公式中 P_i 为某一特定基因位点上第 i 个等位基因的频率 n 为某一特定基因位点上的等位基因数, H_o 为某一特定基因位点的纯合度, H_e 为某一基因位点的杂合度。

有效等位基因数: 有效等位基因数是基因纯合度的倒数, 反映等位基因间的相互影响, 是衡量基因纯合度的另一指标。

$$Ne = 1 / \sum_{i=1}^n P_i^2$$

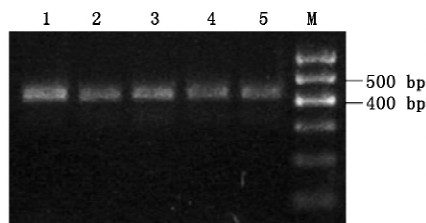
$$\text{多态信息含量: } PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

其中 n 为某一特定基因位点上等位基因数目, P_i 、 P_j 分别为第 i 和 j 个等位基因的频率。

2 结果与分析

2.1 牦牛 *A-FABP* 基因的 PCR 扩增

所设计引物对甘南牦牛、天祝白牦牛及青海牦牛 *A-FABP* 基因部分第 3 内含子、第 4 外显子及部分 3'-UTR 区域进行 PCR 扩增, 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(图 1)。结果表明, PCR 扩增产物琼脂糖电泳条带清晰, 特异性良好, 片段大小在 400 ~ 500 bp 之间, 与设计扩增片段相符, 扩增产物可以进行 SSCP 分析。



M. DL 600 DNA marker; 1 ~ 5. 不同个体 PCR 扩增产物。

M. DL 600 DNA marker; 1 ~ 5. PCR amplicons of different individuals.

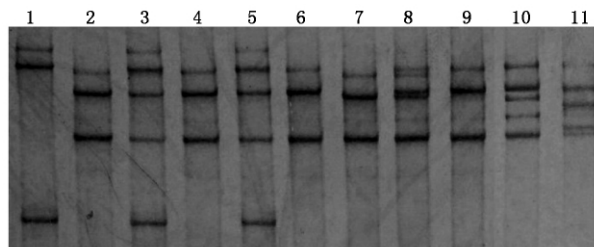
图 1 牦牛 *A-FABP* 基因 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶检测

Fig. 1 Agarose gel check of the PCR amplicons of *A-FABP* gene in yak

2.2 牦牛 *A-FABP* 基因 PCR-SSCP 分析

牦牛 *A-FABP* 基因 PCR 扩增产物 SSCP 带型分

布见图 2。在引物扩增区域发现 5 种 SSCP 带型, 分别代表 5 种等位基因 A、B、C、D 和 E 形成 AA、BB、CC、AB、AC、AD、AE 共 7 种基因型, 其中等位基因 C、D 和 E 在检测样品中只存在杂合型。



2 4 6 9. AA 型; 7. BB 型; 1. CC 型; 8. AB 型; 3 5. AC 型; 10. AD 型; 11. AE 型。

2 4 6 9. AA genotype; 7. BB genotype; 1. CC genotype; 8. AB genotype; 3 5. AC genotype; 10. AD genotype; 11. AE genotype.

图 2 牦牛 *A-FABP* 基因 PCR-SSCP 检测

Fig. 2 PCR-SSCP analysis of *A-FABP* gene in yak

2.3 牦牛 *A-FABP* 基因不同等位基因序列比对

牦牛 *A-FABP* 基因引物扩增区域发现的等位基因 A-E 及普通牛该基因(NC_007312.4) 相应区域序列比对见图 3。与普通牛相应序列比对, 牦牛 *A-FABP* 基因等位基因 B 在第 4 外显子区和 3'-UTR 区分别发现 c. 4222A > G、c. * 6G > A、c. * 53C > T 的转换和 c. * 94T > A 的颠换, 其中在 3'-UTR 区 c. * 94T > A 的颠换为 3 类群牦牛特有的 1 个 SNP。以牦牛 *A-FABP* 基因的等位基因 A 序列为参照, 3 类群牦牛共发现 5 处 SNPs, 包括第 3 内含子区等位基因 C 的 c. 4174-461G > A 及等位基因 D 的 c. 4174-460T > C 的转换, 3'-UTR 区等位基因 B 的 c. * 6G > A 和等位基因 E 的 c. * 53T > C 的转换。

采用 NCBI 的 ORF Finder 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi>) 并参照 Kozak 法则, 确定普通牛 *A-FABP* 基因 399 bp 的编码蛋白质 ORF, 起始密码子位于 61 bp, 终止密码子位于 459 bp(图 3), 推测编码 132 个氨基酸残基。对比普通牛氨基酸序列, 牦牛 *A-FABP* 基因第 4 外显子 c. 4222A > G 的突变未引起氨基酸改变, 为同义突变。

2.4 基因频率和基因型频率

牦牛 *A-FABP* 基因群体遗传多态性分析见表 1。3 类群牦牛各等位基因及基因型频率有较大差异。甘南牦牛、天祝白牦牛及青海牦牛分别检测到 5 3 4 种等位基因, 相应形成 7 4 6 种基因型; 3 类群牦牛中等位基因 A 频率 0.76 ~ 0.80 为优势等位基因, 基因型 AA 频率 0.60 ~ 0.67 为优势等位基因型。

χ^2 适合性检验结果表明, 青海牦牛 *A-FABP* 基因引物扩增区 χ^2 值差异显著, 偏离了 Hardy-Weinberg 平衡状态($P < 0.05$), 而甘南牦牛和天祝白牦

牛 χ^2 值未达到显著水平,处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P>0.05$)。



图中实线框内序列为外显子区域,虚线框内序列为3'-UTR区,小写字母表示序列为内含子区域。
The intron 3 sequence is shown in lowercase while the exon 4 is shown in a solid box, the putative 3'-UTR is indicated by a dashed box.

图3 牦牛及普通牛 *A-FABP* 基因引物扩增区域等位基因核苷酸序列比对结果

Fig.3 Nucleotide sequences alignment of amplicons of *A-FABP* gene in yak and bovine

表1 3类群牦牛 *A-FABP* 基因的基因型频率和等位基因频率

Tab.1 Genotype and allele frequency of *A-FABP* gene in three yak populations

类群 Populations	基因型频率 Genotype frequency							基因频率 Gene frequency					χ^2 值 χ^2 value
	AA	BB	CC	AC	AB	AD	AE	A	B	C	D	E	
甘南牦牛 Gannan yak	0.63	0.05	0.01	0.13	0.15	0.02	0.02	0.78	0.12	0.08	0.01	0.01	37.497 0
天祝白牦牛 Tianzhu white yak	0.67	0.07	-	0.06	0.20	-	-	0.80	0.17	0.03	-	-	7.964 6
青海牦牛 Qinghai yak	0.60	0.05	0.02	0.11	0.18	0.04	-	0.76	0.14	0.08	0.02	-	7.663 2

表2 牦牛 *A-FABP* 基因多态信息量、纯合度、杂合度和有效等位基因数

Tab.2 PIC, Ho, He and Ne of the *A-FABP* gene in yak populations

遗传多态参数 Genetic polymorphism parameters	天祝白牦牛 Tianzhu White Yak	青海牦牛 Qinghai Yak	甘南牦牛 Gannan Yak
等位基因数 Number of alleles	3	4	5
有效等位基因数 Effective number of alleles(Ne)	1.48	1.64	1.58
纯合度 Homozygosity(Ho)	0.67	0.61	0.63
杂合度 Heterozygosity(He)	0.33	0.39	0.37
多态信息含量 Polymorphism information content(PIC)	0.29	0.36	0.34

2.5 牦牛 *A-FABP* 基因的纯合度、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量

遗传杂合度(He)、有效等位基因数(Ne) 和多态信息含量(PIC) 是表示群体内遗传变异大小的指标,不同的遗传参数表明各群体的遗传差别。牦牛 *A-FABP* 基因引物扩增区域的各遗传参数见表2。

青海牦牛群体在检测区域发现4个等位基因,但有效等位基因数1.64在3类群牦牛中为最高;甘南牦牛、青海牦牛和天祝白牦牛检测区域多态信息含量(PIC) 分别为0.34、0.36、0.29,属中度多态。3类群牦牛 *A-FABP* 基因在检测区域有较高的遗传变异。

3 讨论

A-FABP 作为影响肉质性状的候选基因在主要畜禽品种方面研究较多。Gerbens 等^[11]研究表明, *A-FABP* 与杜洛克猪 IMF 含量有关。罗桂芬等^[5]对北京油鸡、叶满红等^[12]对矮脚鸡的研究均表明, *A-FABP* 基因变异对 IMF 有显著影响。*A-FABP* 基因突变也影响“日本和牛×利木辛牛” F_2 杂种牛的大理石花纹、皮下脂肪厚度^[13]、牛背部脂肪厚度^[14]及朝鲜牛大理石花纹^[15]。牦牛为青藏高原及其周边地区特有牛种, 对高寒缺氧环境具有良好适应性, 但与同龄普通牛相比, 牦牛肉肌纤维较粗、肌肉脂肪沉积少、嫩度较差。这种差异除受粗放饲养管理影响外, 也与牦牛种质特性有关。

甘南牦牛、天祝白牦牛及青海牦牛 *A-FABP* 基因检测区域 SNPs 可能影响相应性状的表达。3 类群牦牛检测区域发现 6 处 SNPs, 其中位于第 4 外显子内的 1 处 SNPs 为同义突变。同义突变可能引起外显子的拼接增强^[16], 从而影响 mRNA 本身的翻译速度和寿命, 改变蛋白质表达量, 甚至可能改变蛋白质空间结构^[17], 进而影响相应性状的表现。Lee 等^[15]发现, 朝鲜牛 *A-FABP* 基因第 3 外显子的一个同义突变位点对牛肉大理石花纹有显著影响, Cho 等^[14]发现 *A-FABP* 基因第 2 外显子的 SNPs 与牛背部脂肪厚度相关, 王卓等^[4]也发现 *A-FABP* 外显子 4 的不同基因型对秦川牛大理石花纹和肌肉嫩度有显著影响。推测 3 类群牦牛第 4 外显子区的同义突变可能影响 *A-FABP* 蛋白结构和表达量, 进而对部分肉品质产生影响, 但该突变确切的作用仍需性状表型数据支持。

高等生物基因序列中, 内含子的长度远大于外显子, 大部分随机突变发生在内含子中。虽然内含子不参与蛋白质合成, 但碱基突变可能影响基因表达过程中的正确剪切进而影响蛋白质翻译, 因此可能与基因表达调控有关^[18]; 另外, Glazier 等^[19]、Paganini 等^[20]也认为, 同编码序列变异相比, 非编码序列变异更多地参与对一些复杂性状的调节。Barendse 等^[21]发现澳大利亚牛 *A-FABP* 基因第 3 内含子的一个多态位点对肌内脂肪沉积有显著影响, Di Stasio 等^[22]、Sherman 等^[23]也报道 *A-FABP* 基因内含子区 SNPs 与牛胴体质量和肉品质呈显著相关。本研究在 3 类群牦牛第 3 内含子区发现 c. 4174-161G>A 和 c. 4174-160T>C 的 SNPs。推测该变异可能对 *A-FABP* 基因外显子的“协调”起作用, 或者发挥出“位置效应”而影响 *A-FABP* 基因

表达过程中正确的剪切, 但 *A-FABP* 基因第 3 内含子区 SNPs 对牦牛肉质性状的作用还需进一步研究证实。

同普通牛相应序列比对, 本研究在牦牛 *A-FABP* 基因 3'-UTR 区发现 3 处 SNPs, 且 c. *94T>A 颠换只存在于牦牛群体中, 可以看作是牦牛区别于普通牛的分子遗传特征之一。

牦牛 *A-FABP* 基因检测区域的等位基因分布在群体间差异较大。在天祝白牦牛群体中没有检测到等位基因 D 和 E, 且等位基因 C 在该群体中频率相对较低, 青海牦牛中未检测到等位基因 E。等位基因频率在群体间的差异可能与检测样品来源及白牦牛不同于黑牦牛的遗传特性有关。天祝白牦牛分布于祁连山高寒牧区, 与甘南牦牛及青海牦牛地缘相距较远; 且样品来源于长期实行闭锁繁育的白牦牛选育核心群, 群体具有相对较高的遗传一致性。因此, 天祝白牦牛 *A-FABP* 基因变异相对较小, 等位基因数少于其他 2 群牦牛。

群体遗传学分析表明, 青海牦牛 *A-FABP* 基因检测区域基因型频率偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P<0.05$)。近年来, 在青海牦牛群体中推广大通牦牛(野血牦牛)进行改良, 相对天祝白牦牛及甘南牦牛受选择的影响较大, 可能是造成 Hardy-Weinberg 不平衡的主要原因。3 类群牦牛检测位点表现为中度多态 (PIC 为 0.29~0.36), 有效等位基因数较高, 表明 *A-FABP* 基因在不同牦牛类群中遗传变异相对较大, 可作为潜在的牦牛肉质性状分子标记位点。

参考文献:

- [1] 陈志辉, 徐良梅, 单安山. 脂肪酸结合蛋白及其基因[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(5): 689-692.
- [2] Gerbens F, Verburg F J, Van Moerkerk H T, *et al.* Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs[J]. J Anim Sci, 2001, 79(2): 347-354.
- [3] Van Nieuwenhoven F A, Van der Vusse C J, Glatz J F. Membrane associated and cytoplasmic fatty acid binding proteins[J]. Lipids, 1996, 31: 223-227.
- [4] 王卓. 秦川牛 *H-FABP*、*A-FABP* 和 *E-FABP* 基因 SNPs 及其与部分肉用性状关联分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2005: 35-36.
- [5] 罗桂芬, 陈继兰, 文杰, 等. 鸡 *A-FABP* 基因多态性分析及其与脂肪性状的相关研究[J]. 遗传, 2006, 28(1): 39-42.
- [6] Hoashi S, Hinenoya T, Tanaka A, *et al.* Association between fatty acid compositions and genotypes of *FABP4*

- and *LXR-alpha* in Japanese Black cattle [J]. BMC Genetics 2008 84(9): 1471 – 2156.
- [7] 李文娟, 李宏宾, 文 杰, 等. 鸡 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达与肌肉脂肪含量相关研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2006 37(5): 417 – 423.
- [8] Zimmerman A W, Veerkamp J H. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins [J]. Cell Mol Life Sci 2002 59: 1096 – 1116.
- [9] 郝荣超, 杨国忠, 杨翠军, 等. 草原红牛及其杂种后 *A-FABP* 第 4 外显子遗传多态性分析 [J]. 基因组学与应用生物学 2010 29(5): 865 – 870.
- [10] 刘艳妍, 咎林森, 王洪宝, 等. *A-FABP* 基因 5 因侧翼区多态性及其与秦川牛肉用性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报 2010 41(6): 644 – 650.
- [11] Gerbens F, Jansen A, Anton J M, et al. The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs [J]. Mammalian Genome 1998 9: 1022 – 1026.
- [12] 叶满红, 文 杰, 曹红鹤, 等. 脂肪型脂肪酸结合蛋白基因多态性与鸡肉品质性状的关系研究 [J]. 畜牧兽医学报 2007 386: 526 – 532.
- [13] Michal J J, Zhang Z W, Gaskins C T, et al. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F₂ crosses [J]. Animal Genetics 2006 37: 400 – 402.
- [14] Cho S, Park T S, Yoon D H, et al. Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle [J]. BMB reports 2008 41(1): 29 – 34.
- [15] Lee S H, van der Werf J H J, Lee S H, et al. Genetic polymorphisms of the bovine Fatty acid binding protein 4 gene are significantly associated with marbling and carcass weight in Hanwoo (Korean Cattle) [J]. Animal Genetics 2010 41: 1365 – 2052.
- [16] Collin R W, de Heer A M, Oostrik J, et al. Mid-frequency DFNA8/12 hearing loss caused by a synonymous *TECTA* mutation that affects an exonsplice enhancer [J]. European Journal of Human Genetics 2008 16: 1430 – 1436.
- [17] Kimchi-Sarfaty C, Oh J M, Kim I W, et al. A "Silent" polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity [J]. Science 315(5811): 2007 525 – 528.
- [18] Mallet J, Houhou L, Pajak F, et al. The cholinergic locus: *ChAT* and *VACHT* genes [J]. J Physiology Paris, 1998 92(2): 145 – 147.
- [19] Glazier A M, Nadeau J H, and Aitman T J. Finding genes that underlie complex traits [J]. Science 2002 298(5602): 2345 – 2349.
- [20] Pagani F, Baralle F E. Genomic variants in exons and introns: identifying the splicing spoilers [J]. Genetics 2004 5(5): 389 – 396.
- [21] Barendse W, Bunch R J, Thomas M B, et al. A splice site single nucleotide polymorphism of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle [J]. Animal Genetics 2009 40: 770 – 773.
- [22] Di Stasio L, Destefanis G, Brugiapaglia A, et al. Polymorphism of the *GHR* gene in cattle and relationship with meat production and quality [J]. Animal Genetics 2005 36(2): 138 – 140.
- [23] Sherman E L, Nkrumah J D, Murdoch B M, et al. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency and carcass merit in beef cattle [J]. Journal of Animal Science 2008 86(1): 1 – 16.